维普资讯 http://www.cqvip.com

动 物 学 研 究 2004, Aug. 25 (4): 334-340 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

林麝及马麝 *SRY* 基因片段克隆及其在系统进化分析中的应用

张 亮[1], 邹方东[1], 陈 三[2], 赵尔宓[1], 岳碧松[1,*]
(1. 四川大学 生命科学学院, 四川 成都 610064; 2. 四川养麝研究所, 四川 成都 611830)

摘要: 根据已报道的偶蹄目动物并参照人和狗 *SRY* 基因碱基序列设计一对简并引物, 以林麝 (*Moschus berezovskii*) 及马麝 (*M. chrysogaster*) 基因组 DNA 为模板, 通过 PCR 扩增出 *SRY* 基因 CDS 区。克隆的林麝及马麝 *SRY* 基因片段经测序, 其长度为 684 bp。从父亲遗传角度出发, 利用 GenBank 中收录的 18 种偶蹄目 *SRY* 基因, 用邻位相接法 (NJ) 和最大简约法 (MP) 分别构建了鹿科、牛科和麝科的系统进化树。聚类树显示麝形成一个单系, 支持麝作为独立一科的观点。

关键词: 林麝; 马麝; *SRY*; 系统进化; 父系遗传
中图分类号: Q959.842 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254-5853(2004)04-0334-07

Cloning of *SRY* Gene from *Moschus berezovskii* and *M. chrysogaster* and Its Application in Phylogenetic Analysis

ZHANG Liang[1], ZOU Fang-dong[1], CHEN San[2], ZHAO Er-mi[1], YUE Bi-song[1,*]
(1. *College of Life Science, Sichuan University, Chengdu* 610064, *China*;
2. *Sichuan Musk Deer Research Institute, Chengdu* 611830, *China*)

Abstract: A pair of degenerate primers was designed according to the reported *SRY* sequences about human, dog and Artiodactyla animals. Two 684 bp CDS regions of *SRY* gene were cloned and sequenced from male *Moschus berezovskii* and male *M. chrysogaster* genomic DNA by PCR method. Sequence analysis were conducted in the light of paternal inheritance and the *SRY* sequences from *M. berezovskii*, *M. chrysogaster*, and the other 18 Artiodactyla animals were used for phylogenetic tree construction by using neighbor-joining (NJ) analysis of MEGA2.1 and maximum parsimony method (MP) analysis of PAUP4.0. The phylogeny showed that the musk deer formed a monophyletic group and it supported that the musk deer should be classified as an individual family Moschidae, instead of a subfamily or a genus.

Key words: *Moschus berezovskii*; *Moschus chrysogaster*; *SRY*; Phylogeny; Paternal inheritance

麝在中新世时期起源于北方, 后来向南方进行适应性扩散, 至今仍然保持着较为原始的结构。现生麝依据头骨量度以及染色体异同分类, 在全世界共有 5 种 (Groves et al, 1995), 即原麝、马麝、林麝、喜马拉雅麝和黑麝。因为外部形态差别较小, 曾将其列为同一种的不同亚种 (Li & Sheng, 1996)。而关于麝和鹿在偶蹄目中的系统发育关系, 仍极具争议: 传统分类学认为麝应作为鹿科的一个亚科甚至一个属存在 (Gao, 1963; Rome, 1966); 近年利用线粒体基因进行系统进化研究的结果认为, 麝应该独立为一个科 (Li et al, 1998a; Su et al, 1999)。

进行系统进化研究目前有三种主要方式: 母系遗传的 mtDNA、父系遗传的 Y 染色体 DNA 非重组区 (Y-DNA) 以及双系遗传的常染色体 DNA 和 X 染色体 DNA。和 mtDNA 一样, Y 染色体非拟常染

收稿日期: 2003-09-30; 接受日期: 2004-04-16
基金项目: 国家科技部重大基础研究前期研究专项资助项目 (2003CCA03000)
* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: bsyue@scu.edu.cn
第一作者: E-mail: dreamfish@sohu.com

维普资讯 http://www.cqvip.com

色体区域也缺少重组，因此它们所有的多态性都能单独反映母系或父系的进化历史。利用 mtDNA 进行进化的研究技术已比较成熟。利用 Y 染色体 DNA 进化研究的方法有 Y 染色体微卫星分析、单核苷酸多态性分析等（Meng & Xue，2003）。近来研究发现，在系统进化方面，Y 染色体上的 *SRY* 基因（sex determining region on Y chromosome）也是一个比较理想的分子标记（Yang et al，2002；Guo et al，2001）。

SRY 基因在进化上很保守，其编码的蛋白中有一段 70 个氨基酸残基的序列具有 DNA 结合蛋白的特性，被命名为 HMG-box。到目前为止，几乎所有引起性别反转的 *SRY* 基因突变位点全部位于 HMG-box 序列内（Whitfield et al，1993；Hawkins，1994）。由于其高度保守性和涵盖遗传进化信息的完整性，可以用于系统进化方面的研究（Yang et al，2002；Guo et al，2001）。

由于麝类动物已经成为濒危物种，麝本身又具有较大的经济价值，开展性别决定机制方面的研究也非常必要。本研究以期克隆林麝和马麝 *SRY* 基因，为性别决定机制的研究提供基础数据，同时从父系遗传角度出发，利用 *SRY* 作为研究进化关系的分子依据，确立麝和鹿在偶蹄目中的系统发育关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

林麝（*M. berezovskii*）及马麝（*M. chrysogaster*）的毛样由四川养麝研究所提供。克隆载体为 pUC18 改建的 pMD18-T。

1.2 总 DNA 的提取

林麝及马麝总 DNA 来自毛囊。剪取 300 根以上毛囊，置于 1.5 mL 离心管中，加入 500 μL TEN，再加入终浓度为 1% 的 SDS 及终浓度为 100 μg/mL 的蛋白酶 K，50 ℃摇床过夜。冷却至室温后，13 000 r/min，离心 5 min，将液体转移至另一 EP 管中，加入等体积酚:氯仿:异戊醇（25:24:1），室温下反复颠倒该 EP 管 15 min。13 000 r/min 离心 5 min，转移上清到另一 EP 管。加入等量异丙醇，离心 15 min，去上清，用 70% 乙醇洗涤沉淀一次，室温干燥。用 20 μL TE（pH 8.0）溶解沉淀，并加入 0.1 μL RNase（20 μg/mL），4 ℃保存。

1.3 PCR 引物的设计

根据已报道的偶蹄目、人和狗 *SRY* 基因核苷酸序列，选取该基因 700 bp 左右保守区域，结合氨基酸序列分析比较，设计简并引物，并由北京赛百盛公司合成。上游引物为 5′-（AG）TC（AGTC）TA（TC）GC（TC）TCTGCTATGT-3′；下游引物为 5′-AGC（GC）A（ACG）AG（TA）AAGGA（AG）（AG）TCA（AG）T-3′。

1.4 PCR 扩增与产物的回收

以雄性林麝及马麝总 DNA 为模板。选用雌性林麝为阴性对照，另作一空白对照。PCR 反应体系为 25 μL。含 1 倍 PCR 反应缓冲液，$MgCl_2$ 2.5 mmol/L，dATP、dTTP、dGTP、dCTP 各 250 μmol/L，上下游引物各 1 pmol/L，Taq DNA 聚合酶 1.25 U，模板 DNA 约 40 ng。反应条件：94 ℃预变性 4 min；94 ℃变性 40 s，54 ℃复性 40 s，72 ℃延伸 60 s，35 个循环；最后 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖电泳检查。用 DEAE－纤维素膜从琼脂糖凝胶上回收目的 DNA 片段。

1.5 PCR 产物的连接、转化、克隆、鉴定和测序

回收的 PCR 产物与 pMD 18-T vector 相连接，转化 *E. coli* JM109，在含有 X-gal 和 IPTG 的平板上进行蓝白斑筛选，各选取若干白斑，扩大培养，然后按 Sambrook & Russell（2001）的小量制备质粒 DNA 的标准方法进行提取。质粒 DNA 经 PCR 后电泳检验。

克隆的 PCR 产物序列由上海联合基因公司进行测序。

本文获得的林麝、马麝 *SRY* 基因序列已被 GenBank 收录，收录号分别为 AY357218、AY357219。

1.6 偶蹄目系统进化分析

对林麝及马麝 *SRY* 基因部分编码序列以及从 GenBank 中获取的 18 种鹿科、牛科动物 *SRY* 基因部分序列（表 1）用 MEGA2.1（Kumra et al，2001）软件进行密码子不同位点的转换与颠换数目的统计，并计算偶蹄目 20 种动物 *SRY* 基因片段序列同源性百分比。利用该软件中的 Kimura 双参数模型计算遗传距离。以野猪（*Sus scrofa*）为外群，用 MEGA 软件中的邻接法（neighbor-joining method，NJ）（Saitou & Nei，1987）及 PAUP4.0（Swofford，2001）的最大简约法（maximum parsimony method，MP）构建系统树。用自举检验（bootstrap test）（Felsenstein，1985）估计系统树各分支节点的置信度，共 1 000 次循环。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 本研究选用的20个物种的 *SRY* 基因序列长度及其登录号

Table 1 *SRY* gene sequences length and accession number of 20 species used in the present study

物种 Species	序列长度 Sequences length (bp)	GenBank 登录号 No. of accession
野猪 *Sus scrofa*	686	U49860
林麝 *Moschus berezovskii*	684	AY357218
马麝 *M. chrysogaster*	684	AY357219
马鹿 *Cervus elaphus maral*	690	AY244497
白唇鹿 *C. albirostris*	690	AY244498
马鹿 *C. elaphus montanus*	690	AY244499
马鹿 *C. elaphus songaricus*	690	AY244500
梅花鹿 *C. nippon*	690	AB046700
豚鹿 *Axis porcinus*	690	AY244496
驼鹿 *Alces alces cameloides*	690	AY148965
麋鹿 *Elaphurus davidianus*	690	AY244501
毛冠鹿 *E. cephalophus*	630	AF461765
黑麂 *Muntiacus crinifrons*	630	AF461766
赤麂 *M. muntjak muntjak*	690	AY007301
野牦牛 *Bos grunniens*	690	AB077320
白臀野牛 *B. javanicus*	690	AB077319
家牛 *B. taurus*	690	U15569
野牛 *B. indicu*	690	AB077318
欧洲野牛 *Bison bonasus*	690	Z30321
山羊 *Capra hircus*	690	D82963

2 结果与分析

2.1 PCR 产物的鉴定与回收

从电泳结果（图1）可以看出，雄性林麝和马麝 *SRY* 基因 PCR 扩增产物在 700 bp 左右有一条明显带，而雌林麝及空白对照均只有引物二聚体，无该带。说明该 DNA 片段是雄性特异的。重组质粒经 PCR 后电泳显示的片段为 700 bp 左右，与预期相符。

2.2 *SRY* 基因插入片段的测序结果及分析

序列测定表明目的片段长为 684 bp。将该片段序列在 NCBI 上进行 BLAST 搜索，显示的均为 *SRY* 基因序列，并包含其 HMG-box 区。因此认为克隆到的片段就是林麝及马麝 *SRY* 基因片段，并包含 HMG-box 区。从 *SRY* 基因的 CDS 区 DNA 推导出相应的氨基酸序列（图2），开放阅读框从 1—684 bp，长 684 bp，编码 227 个氨基酸。起始密码子位于 1—3 bp 处，终止密码子位于 681—684 bp 处。HMG-box 区域包含 79 个氨基酸（D^{52}—K^{130}）。

与人 *SRY* 基因 mRNA 完整 CDS 区（GenBank 序列号 L10101）比较，同源性为 71.4%。林麝及马麝 *SRY* 序列片段与18种鹿科、牛科动物 *SRY* 序

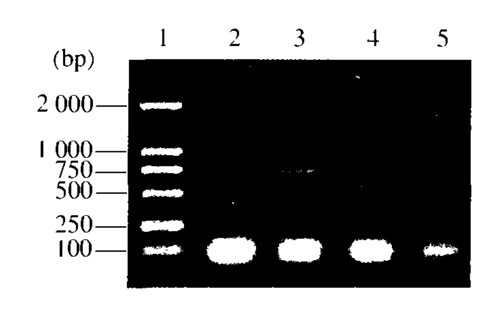


图1 林麝与马麝 *SRY* 基因片段的 PCR 电泳图

Fig.1 PCR amplification of *SRY* fragment of *M. berezovskii* and *M. chrysogaster*

1: DL2000 PCR marker; 2: 雌林麝 (Female *M. berezovskii*); 3: 雄林麝 (Male *M. berezovskii*); 4: 空白 (Blank control); 5: 雄马麝 (Male *M. chrysogaster*)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 ATG TTC AGA GTA TTG AAC AAC GAT GTT TAC AGT CCA GCG GTG GTA CAG CAA CAA ACT ACT 60
M F R V L N N D V Y S P A V V Q Q Q T T

61 CTC GCC TTT GGG AAA GCC TCT TCC TTG(A) TGC ACA GAC AAC CGC AGC GCA AAT GAT CAG TGT 120
L A F G K A S S L(L) C T D N R S A N D Q C

121 GAA ATG GGA GAA AAT TTT AGG GAG AGC GGC CAG GAC CAC G(A)TC AAG CGA CCC ATG AAC GCC 180
E M G E N F R E S G Q D H V(I) K R P M N A

181 TTC ATT GTG TGG TCT CGT GAA CGA AGA CGA AAG GTG GCT CTA GAG AAT CCC CAA ATG GAG 240
F I V W S R E R R R K V A L E N P Q M Q

241 CAA AAC TCA ATT AGC AAG CAG CC(T)G GGA TAT GAG TGG AAA AGA CTT ACA GAT GCT GG(A)A AAG 300
N S E I S K Q P(L) G Y E W K R L T D A G(E) K

301 CGC CCA TTC TTT GAG GAG GCA CAG AGA CTA CTA GCC ATA CAC CAA GAC AAA TAC CCG GGC 360
R P F F E E A Q R L L A I H Q D K Y P G

361 TAT AAA TAT CGA CCT CGT CGG AAA GCT AAG AGG CCA CAG AAC TCG CTT CCT TCA GTC TCT 420
Y K Y R P R R K A K R P Q N S L P S V S

421 TCA ATA CTA TGC AAC CAG ATG AGT GTA GAG ACA TTG CAC CCC TTC ACA TAC AGG GAC GGT 480
S I L C N Q M S V E T L H P F T Y R D G

481 TGT GCC AAG ACC ACA TAC TCA CCA ATG GAA AGC CAA TTA AGC CGC TT(C)A CAG TCC ATG ACC 540
C A K T T Y S P M E S Q L S R L(S) Q S M T

541 AGT TCA CTC CTG CAA AAG GAG CAT CAC AGC AGC TGG ACA AGC CTG GGC CAC AAT AGG GTA 600
S S L L Q K E H H S S W T S L G H N R V

601 ACA ATG GCT ACA CAT ATT TTC GCG GAC TTT CCC TTT TAC CAA AGT TTA GAG CCT AGA CTT 660
T M A T H I F A D F P F Y Q S L E P R L

661 TCT TGC GCT TAT TTT CCA TAC TGA 684
S C A Y F P Y

图 2 马麝和林麝 *SRY* CDS 区及其编码的氨基酸序列

Fig.2 CDS regions and deduced amino acid sequences of *SRY* in *M. berezovskii* and *M. chrysogaster*

括号内为林麝与马麝不同的碱基和氨基酸；方框表示 *SRY* 基因的 HMG-box 区；下划线处表示引物序列。

It is different site or amino acid of *M. berezovskii* from *M. chrysogaster* in the brackets. The box regions indicate HMG-box of *SRY*; the underlined sequences represent primers.

列片段比较图略。鹿亚科的黑鹿和毛冠鹿的该 CDS 区片段不完整，均只有 630 bp。这 20 种偶蹄目动物中 *SRY* 基因序列片段的同源性在 78.7% ~ 100%。野猪和羊亚科的山羊（*Capra hircus*）差异最大，同源性为 78.7%，马鹿的两个亚种间该区域无差异，同源性 100%。

2.3 偶蹄目部分动物系统进化分析

NJ 法和 MP 法构建的聚类树基本相同（图 3 和图 4）。除猪科外，所有序列被分为 3 个大群，即鹿科、麝科和牛总科，且分枝明显。其中鹿科又分为美洲鹿亚科（Odocoileinae）、鹿亚科（Mervinae）和鹿亚科（Muntiacinae）；牛总科分为羊亚科（Caprinae）和牛亚科（Moschinae）。

3 讨 论

NJ 法（图 3）和 MP 法（图 4）构建的 *SRY* 基因 CDS 序列进化树显示：鹿科、麝科、牛总科分支明显。麝与鹿科的进化距离近似等于牛总科与鹿科的进化距离，为一个单系。其结果支持麝独立分科的观点（Sheng et al，1992；Li et al，1998a；Su et al，1999）。麋鹿属（*Elaphurus*）、斑鹿属（*Axis*）、鹿属（*Cervus*）聚为一类（鹿亚科），鹿属

维普资讯 http://www.cqvip.com

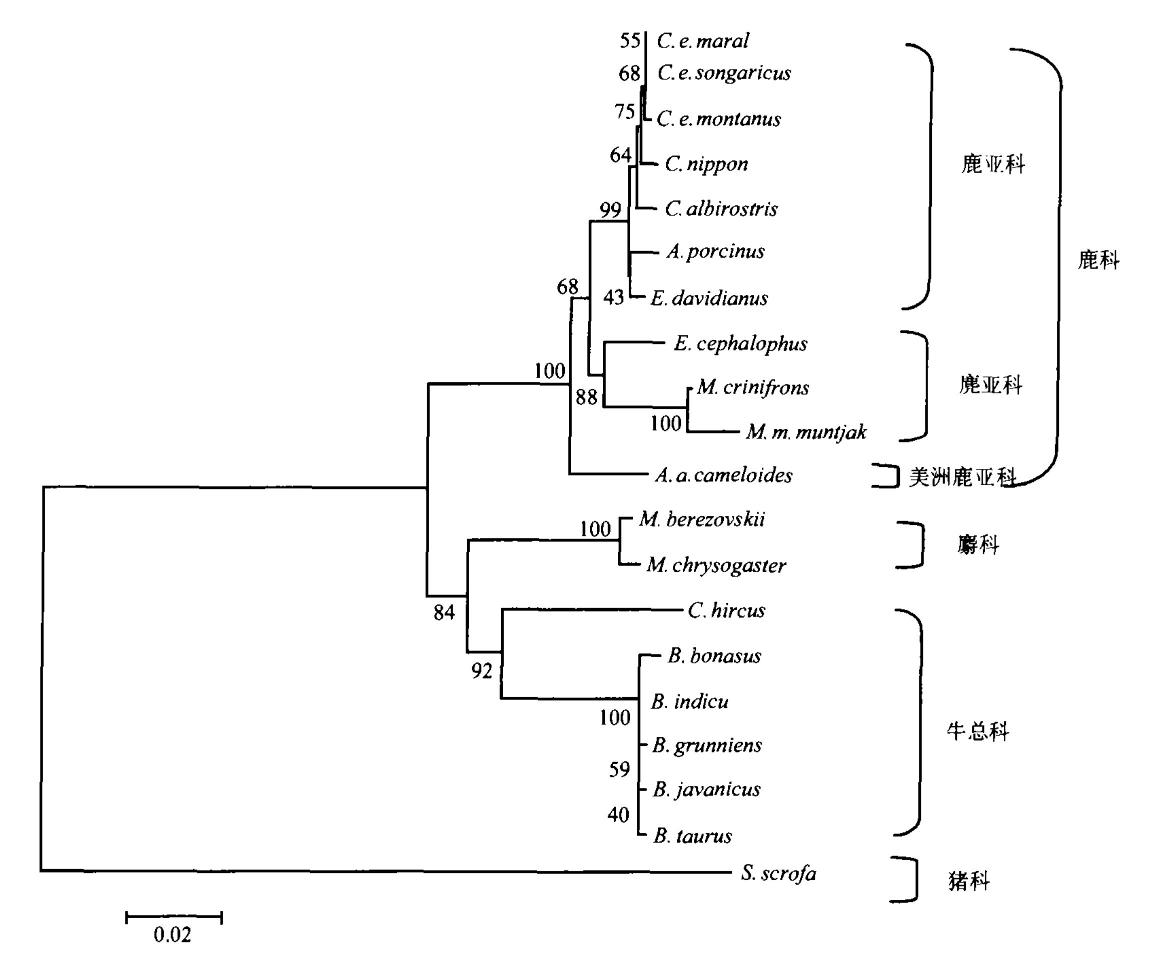


图 3 基于 *SRY* 基因片段序列用 NJ 法构建的偶蹄目 20 种动物的分子系统进化树
Fig.3 Phylogenetic tree of 20 Artiodactyla animals based on of *SRY* sequences by the NJ method

(*Muntiacus*)、毛冠鹿属（*Elaphodus*）聚为一类（麂亚科），两者再聚合组成姐妹群，与现代分类系统（Guo et al，2001；Li et al，1998b，1999）相符。鹿亚科马鹿几个亚种组成单系，与梅花鹿并列，与 Li et al（1998b）马鹿从梅花鹿中分化出的结果不同；此外，豚鹿和麋鹿属均为单系支，不属于鹿属的姐妹群，又分别与 Liu et al（2003）与 Randi et al（2001）的结果有分歧。豚鹿和麋鹿的分类地位如何，值得进一步研究。

在分析过程中发现：与鹿科、牛科相比，林麝及马麝在 532 bp 的位置均缺失了 6 个碱基（GTTGTG），即其编码的蛋白质缺失了 2 个氨基酸（V）。虽未改变阅读框，但这 2 个氨基酸的缺失对该段序列编码蛋白质的空间结构和功能等是否有影响，及其在鹿科、麝科、牛科进化上是否有所表现，还有待进一步研究。

本文用近 700 bp 长度碱基构建系统树，其研究结果与 Su et al（1999）用 1 400 bp 的碱基构建系统树基本一致。造成系统树中个别节点支持率不高的原因可能是序列较短，包含的有效信息不够。同时，本文运用两种方法构树，得出的结论基本一致，说明方法选择是合理的，表明用 *SRY* 基因可以作为构建系统树的分子依据。但在研究大范围系统进化关系、分析数据较多时，则应集合核基因尤其是 Y 染色体非重组区基因和线粒体基因（Murphy et al，2001a，b），既利用了线粒体基因母系遗传作为进化分子依据的极大优越性，又弥补了其可能产生父系遗传（Zhao et al，2000；Tian，1999）、含有假基因、密码子第二位有 T、C 偏好等不足（Pang et al，2003）。这是今后从分子水平研究系统进化关系的发展趋势。

致谢：本文在成文过程中得到中国科学院昆明动物研究所庞峻峰博士的悉心指导和帮助，特此致谢！

维普资讯 http://www.cqvip.com

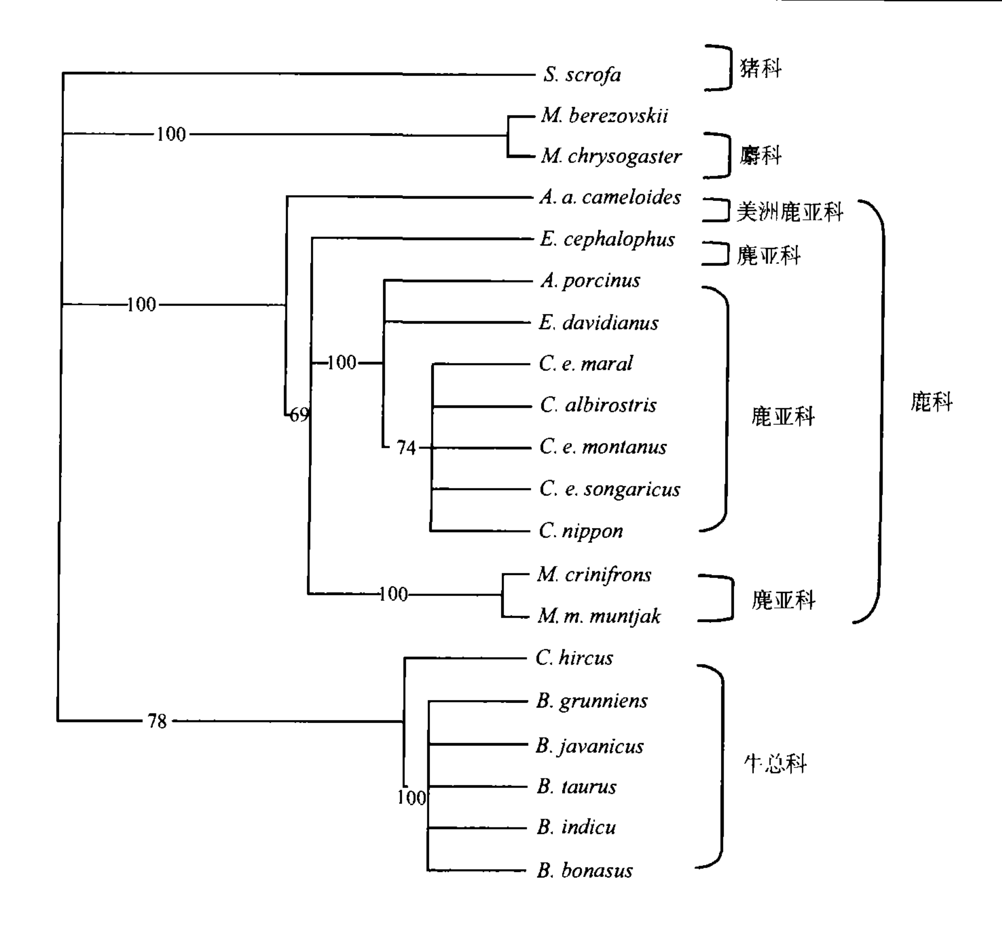


图 4 基于 *SRY* 基因片段序列用 MP 法构建的偶蹄目 20 种动物的分子系统进化树
Fig.4 Phylogenetic tree of 20 Artiodactyla animals based on *SRY* sequences by the MP method

参考文献:

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap [J]. *Evolution*, **39**: 783 - 791.

Gao YT. 1963. Classification of the Chinese musk deer [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **9** (3): 479 - 487. [高耀亭. 1963. 中国麝的分类. 动物学报, **9** (3): 479 - 487.]

Groves CP, Wang YX, Grubb P. 1995. Taxonomy of musk deer, genus *Moschus* (Moschidae, Mammalia) [J]. *Acta Theriol. Sinica*, **15**: 181 - 197.

Guo JH, Shan XN, Chang Q, Yu DW, Wu JY. 2001. Sequencing *SRY* gene of *Muntiacus muntiak vaginalis* and a phylogenetic comparison with some of artiodactyla [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **47** (2): 145 - 149. [郭金虎, 单祥年, 常 青, 余多慰, 武景阳. 2001. 赤麂 *SRY* 基因的测序及其与部分偶蹄目动物 *SRY* 基因序列的比较. 动物学报, **47** (2): 145 - 149.]

Hawkins JR. 1994. Sex determination [J]. *Hum. Mol. Genet.*, **3**: 1463.

Kumra S, Tamura K, Jakobsen I, Nei M. 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software [CP]. Arizona: Arizona State University.

Li M, Sheng HL. 1996. The classify research of Chinese musk deer [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 31 - 32. [李 明, 盛和林. 1996. 中国麝科动物分类现状. 动物学杂志, 31 - 32.]

Li M, Wang XM, Sheng HL. 1998a. Origin and genetic diversity of four subspecies of red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Zool. Res.*, **19** (3): 177 - 183. [李 明, 王小明, 盛和林. 1998b. 马鹿四个亚种的起源和遗传分化研究. 动物学研究, **19** (3): 177 - 183.]

Li M, Sheng HL, Tamate H, Masuda R, Nagata J, Ohtaishi N. 1998b. MtDNA difference and molecular phylogeny among musk deer, Chinese water deer, muntijak and deer [J]. *Acta Theriologica Sinica*, **18** (3): 184 - 191. [李 明, 盛和林, 玉手英利, 増田隆一, 永田纯子, 大泰司纪之. 1998a. 麝、獐、麂和鹿间线粒体 DNA 的差异及其系统进化研究. 兽类学报, **18** (3): 184 - 191.]

Li M, Wang XM, Sheng HL, Tamate H, Masuda R, Nagata J, Ohtaishi N. 1999. Mitochondrial DNA divergence and phylogeny of four species of deer of the genus *Cervus* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **45** (1): 99 - 105. [李 明, 王小明, 盛和林, 玉手英利, 増田隆一, 永田纯子, 大泰司纪之. 1999. 四种鹿属动物的线粒体 DNA 差异和系统进化关系研究. 动物学报, **45** (1): 99 - 105.]

Liu XH, Wang YQ, Liu ZQ, Zhou KY. 2003. Phylogenetic relationships of Cervinae based on sequence of mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. *Zool. Res.*, **24** (1): 27 - 33. [刘向华, 王义权, 刘忠权, 周开亚. 2003. 从 Cyt *b* 基因序列探讨鹿亚科动物的系统发生关系. 动物学研究, **24** (1): 27 - 33.]

Meng XN, Xue YL. 2003. Analyzing the origin and the evolution of human by using Y chromosome [J]. *Foreign Medical Sciences (Genetics)*, **26** (3): 63 - 66. [孟祥宁, 薛雅丽. 2003. 利用 Y 染色体进行人类起源和进化分析. 国外医学遗传学分册, **26** (3): 63 - 66.]

Murphy WJ, Eizirik E, O'Brien SJ, Madsen O, Scally M, Douady CJ, Teeling E, Ryder OA, Stanhope MJ, de Jong WW, Springer MS. 2001a. Resolution of the early placental mammal radiation us-

维普资讯 http://www.cqvip.com

ing *Bayesian phylogenetics* [J]. *Science*, **294**: 2348-2351.

Murphy W J, Eizirik E, Johnson WE. 2001b. Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals [J]. *Nature*, **409**: 614-618.

Pang JF, Wang YZ, Zhong Y, Hoelzel AR, Papenfuss TJ, Zeng XM, Ananjeva NB, Zhang YP. 2003. A phylogeny of Chinese species in the genus *Phrynocephalus* (Agamidae) inferred from mitochondrial DNA sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **27**: 398-409.

Randi E, Mucci N, Claro Hergueta F. 2001. A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: Speciation in *Cervus* and implications for conservation [J]. *Animal Conservation*, (4): 1-11.

Rome AS, 1966. Vertebrate Paleontology [M]. Chicago: University of Chicago Press.

Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 406-425.

Sambrook J, Russell DW. 2001. Molecular Cloning. Third Edition [M]. New York: CSHL Press. 32-35.

Sheng HL, Ma YQ, Zhang ED. 1992. The Deer in China [M]. Shanghai: East China Normal University Press. 305. [盛和林，马逸清，张恩迪. 1992. 中国鹿类动物. 上海：华东师范大学出版社. 305.]

Su B, Wang YX, Lan H, Wang W, Zhang YP. 1999. Phylogenetic study of complete cytochrome b genes in musk deer (Genus *Moschus*) using museum samples [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12** (3): 241-249.

Swofford DL. 2001. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods), 4.0b8a [CP]. Sunderland, MA: Sinauer.

Tian ZH. 1999. Cytoplasmic inheritances are not all the matrilineal heredity [J]. *Bulletin of Biology*, **34** (1): 14-15. [田志宏. 1999. 细胞质遗传并非都是母系遗传. 生物学通报, **34** (1): 14-15.]

Whitfield LS, Robin Lovell-Badge, Peter NG. 1993. Rapid sequence evolution of the mammalian sex-determining gene *SRY* [J]. *Nature*, **364**: 713-715.

Yang XJ, Yang YH, Zhang YZ, Chen HW, Fei LS, Song YF, He GX. 2002. Cloning and sequence analysis of *SRY-HMG* box from raccoon [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **48** (3): 425-428. [杨晓娟，杨玉华，张义正，陈红卫，费立松，宋云芳，何光昕. 2002. 浣熊 *SRY-HMG* box 的克隆和序列分析. 动物学报, **48** (3): 425-428.]

Zhao XB, Chu MX, Li N, Wu CX. 2000. Paternal inheritance of sheep mitochondrial DNA [J]. *Science of China* (*C series*), **30** (6): 642-646. [赵兴波，储明星，李 宁，吴常信. 2000. 绵羊线粒体 DNA 的父系遗传. 中国科学（C辑），**30** (6): 642-646.]

（上接第 303 页）

《用于蛋白质组学的蛋白质纯化实验指南》（影印版）

Cold Spring Harbor Lab (CSHL) Press

2004 年 6 月出版

ISBN 7-03-013387-0/Q.1423

16 开，定价：98.00 元

本书详细论述了用于蛋白质组学研究的蛋白质纯化实验技术。

《小鼠胚胎操作实验指南内容提要》（影印版）

作者：A. 纳吉，K. 文特斯坦，R. 贝林杰

书号：7-03-012438-3

预告定价：99 元

出版时间：2004 年 1 月

本书对小鼠的发育遗传学、胚胎学研究，小鼠发育，转基因小鼠、克米拉小鼠制备的普遍问题，移植后胚胎的复原、体外培养等方面的理论基础进行了翔实的阐述，并且对小鼠胚胎的一系列操作技术和方法进行了详细的说明，具有较大的实验指导意义。版式设计侧重于方便读者使用，正文中穿插了丰富的图表作为实验设计的辅助说明，附录中还列出基本溶液、缓冲液的配方和配制方法，以及实验注意事项等。

（下转第 350 页）